

PAT-NO: JP402297064A
DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 02297064 A
TITLE: REAGENT FOR DIAGNOSIS OF HEMORRHAGIC
FEVER WITH RENAL SYNDROME
PUBN-DATE: December 7, 1990

INVENTOR-INFORMATION:
NAME
RI, KOUO
TOMIYAMA, TETSUO
MITANI, KATSUO

ASSIGNEE-INFORMATION:	COUNTRY
NAME	
KI KOO	N/A
TOMIYAMA TETSUO	N/A
TOKUYAMA SODA CO LTD	N/A

APPL-NO: JP01104544
APPL-DATE: April 26, 1989

INT-CL (IPC): G01N033/569, A61K039/12
US-CL-CURRENT: 435/5

ABSTRACT:

PURPOSE: To enable the simple and speedy diagnosis of whether or not infected with Hantaan viruses by a reagent which contains sensitized insoluble grains obtained by sensitizing the Hantaan viruses antigen to insoluble carrier grains.

CONSTITUTION: Though a Hantaan virus reagent can be

prepared from the organs
of infected animals, infected cultured cells, etc., it is
preferable to be
prepared from the brain of an infected suckling mouse or a
rat in terms of
yields, safety, etc. One of the methods to prepare from
this brain of a
suckling mouse or a rat is, e.g. as follows. The brain of
a suckling mouse or
a rat is inoculated and infected with the viruses. Tissue
emulsion obtained
from this infected brain tissue is centrifuged at a low
temperature, the
supernatant fluid is taken, and treated with ethyl alcohol
and protamine
sulfate. Then this is further centrifuged at high speed
and the supernatant
fluid is taken, the formalin left after inactivated with
formalin is removed by
dialysis, and the Hantaan virus antigen is obtained.

COPYRIGHT: (C)1990,JPO

⑫ 公開特許公報(A) 平2-297064

⑤Int.Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑬公開 平成2年(1990)12月7日

G 01 N 33/569
// A 61 K 39/12L 9015-2G
8829-4C

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全6頁)

⑭発明の名称 腎症候性出血熱の診断用試薬

⑰特 願 平1-104544

⑱出 願 平1(1989)4月26日

⑲発明者 李 鎬 汪 韓国ソウル特別市鐘路区東崇洞129番地 光明住宅E棟1号

⑲発明者 富山 哲雄 東京都練馬区大泉学園町7-2-2

⑲発明者 三谷 勝男 神奈川県藤沢市鵠沼神明2-12-21-307

⑲出願人 李 鎬 汪 韓国ソウル特別市鐘路区東崇洞129番地 光明住宅E棟1号

⑲出願人 富山 哲雄 東京都練馬区大泉学園町7-2-2

⑲出願人 徳山曹達株式会社 山口県徳山市御影町1番1号

⑲代理人 弁理士 津国 肇 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

腎症候性出血熱の診断用試薬

2. 特許請求の範囲

ハンタウィルス抗原を不溶性担体粒子に感作して得られる感作不溶性粒子を含有してなることを特徴とする腎症候性出血熱の診断用試薬。

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、腎症候性出血熱の診断用試薬に関し、さらに詳しくは、臨床検査に好適に使用することのできる腎症候性出血熱の診断用試薬に関する。

〔従来技術と発明が解決しようとする課題〕

ハンタウィルス(Hanta virus)は1978年李らによって韓国セスジノネズミ肺から分離されたBunyaviridae科に属するウィルスである(H. W. Lee et al.: J. Infect. Dis.. 137: 298-, 1978)。

このウィルスはヒトに感染して腎症候性出血熱

(以下、単にHFRSとすることがある。)の病原となる。

HFRSは古くからユーラシア大陸北部に地方病として存在していたと推定されるが、1938年頃から中国東北部に駐在していた日本陸軍に多発し、また1951年韓国動乱の折りには国連軍に流行して以来、中国などで多数の発生をみている。

現在、このウィルスは地球上の広い範囲に分布していることが知られている。

HFRSは臨床的に定型的な出血熱の症候を示すこともあるが、非定型的な臨床像を示すことも多く、臨床所見だけで診断することが難しいことが多い。

従来、HFRSの診断法としては、血清診断法が採用され、例えば蛍光抗体法、酵素抗体法が常用されている。

しかしながら、両法とも特異性、感度ともに満足すべきものではあるが、いずれも操作が煩雑で多くの労力を要し、また特殊な機器と検査時間を

要し、臨床検査に応用するのは容易ではなかった。

すなわち、本発明の目的は、特殊な機器を用いずとも、簡単かつ迅速にハンタウィルスに感染しているか否かを診断することのできる腎症候性出血熱の診断用試薬を提供することにある。

〔課題を解決するための手段〕

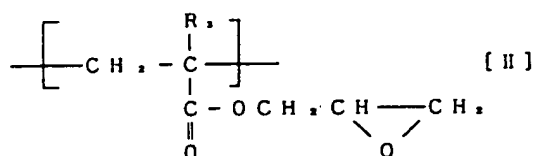
本発明の腎症候性出血熱の診断用試薬は、ハンタウィルス抗原を不溶性担体粒子に感作して得られる感作不溶性粒子を含有してなることを特徴とする。

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明に用いるハンタウィルス抗原は感染動物臓器、感染培養細胞などから調製することもできるが、収量、安全性などの観点から感染哺乳マウス脳またはラット脳から調製することが望ましい。

感染哺乳マウス脳またはラット脳から調製する方法としては、例えば、哺乳マウス脳またはラッ

式〔Ⅱ〕



(但し、 R_1 は水素原子又はアルキル基を表わす。)で示されるモノマー単位を有する疎水性ポリマーの粒子を挙げることができる。

前記 R_1 としてのフェニル基の置換基は特に限定されないが、ハロゲン原子、ハロアルキル基、アルキル基等を挙げることができる。

なお、これらの中でも R_1 が置換若しくは非置換のフェニル基、塩素原子、またはアルコキシカルボニル基であるモノマー単位が好ましい。

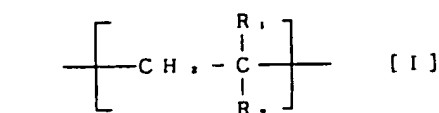
前記式〔Ⅰ〕に示すモノマー単位を与える単量体としては、例えば、スチレン、ビニルトルエン、クロロメチルスチレン、クロルスチレン、塩化ビニル、臭化ビニル、メチルメタアクリレート、エチルメタアクリレート、プロピルメタア

クリレート、酢酸ビニル、エチルビニルエーテル、プロピルビニルエーテル、ブチルビニルエーテル、アクリロニトリル、メタアクリロニトリル等を挙げることができる。

なお、これらの中でも好ましいのは、スチレン、ビニルトルエン、クロロメチルスチレン、塩化ビニル、メチルメタアクリレート、エチルメタアクリレートである。

前記〔Ⅱ〕式で示されるモノマー単位を与える

単量体としては、例えばグリシジルアクリレート、グリシジルメタアクリレート等を挙げることができる。



(但し、 R_1 は水素原子またはアルキル基であり、 R_2 はハロゲン原子、置換もしくは非置換のフェニル基、アルコキシカルボニル基、アシルオキシ基、アルコキシ基またはシアノ基を表わす。)で示されるモノマー単位および/または次

りレート、酢酸ビニル、エチルビニルエーテル、プロピルビニルエーテル、ブチルビニルエーテル、アクリロニトリル、メタアクリロニトリル等を挙げることができる。

なお、これらの中でも好ましいのは、スチレン、ビニルトルエン、クロロメチルスチレン、塩化ビニル、メチルメタアクリレート、エチルメタアクリレートである。

前記〔Ⅱ〕式で示されるモノマー単位を与える単量体としては、例えばグリシジルアクリレート、グリシジルメタアクリレート等を挙げることができる。

なお、前記式〔Ⅰ〕に示すモノマー単位および前記式〔Ⅱ〕モノマー単位を有する疎水性ポリマー粒子にあつては、前記〔Ⅱ〕式で示されるモノマー単位の含有量をポリマー粒子中に0.01~20モル%、好ましくは、0.05~5モル%となる範囲から選ぶことが好適である。

また、疎水性ポリマー粒子は、診断用試薬の性質に悪影響を及ぼさない範囲、例えば、20モル

%以下の範囲で前記式〔II〕以外の親水性ビニル系モノマー単位を含んでいても良い。

親水性ビニル系モノマー単位を与える単量体としては、例えば、メタクリル酸、アクリル酸、スチレンスルホン酸、スチレンスルホン酸ナトリウム、2-ヒドロキシエチル(メタ)アクリレート、ビニルピロリドン、ポリエチレングリコール(メタ)アクリル酸エステル等を挙げることができる。

また、疎水性ポリマー粒子には、ジビニルベンゼン、エチレングリコールジメタクリレート、ジエチレングリコールジメタクリレート、ビスフェノールAジグリシジルエーテル等の架橋性単量体も含有せしめることができる。

以上に述べた疎水性ポリマー粒子を得るための重合方法は、公知のいわゆるラテックス粒子の製造方法を好適に採用することができ、例えば、特開昭59-1503号に記載の方法を挙げることができる。

本発明に係る疎水性ポリマー粒子の平均粒径

また、無機化合物粒子として、シリカと結合可能な周期律表第I族、第II族、第III族及び第IV族からなる群より選ばれた少なくとも1種の金属酸化物とシリカとを主な構成成分とする無機酸化物を使用することもできる。その無機酸化物の具体例としては、例えば酸化リチウム、酸化ナトリウム、酸化カリウム、酸化マグネシウム、酸化カルシウム、酸化ストロンチウム、酸化バリウム、酸化アルミニウム、酸化チタニウム、酸化ジルコニウム、酸化ゲルマニウム、酸化ハフニウム、酸化錫、酸化鉛等を挙げることができる。

なお、本発明に係る無機化合物粒子にあっては、このような材質からなりかつ本発明の目的を阻害しない限りにおいて、特にその無機化合物粒子の構造を制限するものではなく、前記材質からなる粒子であってもよいし、またその粒子を核とし、その核を1または2以上の層、例えば後述する染料を含有する色素層等で被覆してなる無機化合物粒子であってもよい。

無機化合物粒子の平均粒子径は、0.1～

は、0.01～10 μ m、好ましくは、0.05～5 μ mである。

疎水性ポリマー粒子の形状は、多面体、柱体、両錐体、球体等、特に制限するものではないが、好ましくは球体、さらに好ましくは真球体である。

前記無機化合物粒子としては、公知のものを好適に使用することができ、例えば、シリカ、アルミナ、チタニア、ジルコニア、酸化第二鉄、四三酸化鉄、酸化コバルト、酸化ニッケル等の周期律表第III族、第IV族または第VII族の金属の酸化物；水酸化アルミニウム、水酸化第二鉄、水酸化クロム等の水酸化物；臭化銀、塩化銀等のハロゲン化合物；硫化カドミウム等の硫化物；炭酸カルシウム、炭酸マグネシウム等の炭酸塩；硫酸バリウム、硫酸ストロンチウム等の硫酸塩等を挙げることができる。

なお、これらの中でも好ましいのは、シリカ、アルミナ、チタニア、ジルコニアまたはこれらを主な構成成分とする複合酸化物である。

10.0 μ m、好ましくは、0.8～5.0 μ mである。

無機化合物粒子の比重は、通常1.5～4.0、好ましくは1.8～2.5である。

なお、このような無機化合物粒子の中でも特に好ましいのは、前記材質、例えば、シリカを主な構成成分とする複合酸化物を核とし、その核を後述する染料を含有する色素層で被覆し、所望により、さらに前記複合酸化物で被覆し、その表面をシランカップリング剤、チタンカップリング剤等で処理することによりその表面に反応基を担持せしめた無機化合物粒子であって、その平均粒子径が0.1～10 μ mでありかつ比重が、1.5～4.0である、いわゆる高比重複合体粒子（以下、単にHDPということがある。）である。

さらに、本発明においては、前記無機化合物粒子の粒子分散性が80%以上好ましくは90%以上のものが好適である。

なお、本発明にいう粒子分散性とは、全粒子中に占める非凝集粒子、すなわち、単一粒子の個数

の割合(%)であり、通常、コールクーカウンター社製モデルZD-1によって測定することができる。

無機化合物粒子の形状は、使用される無機化合物の結晶構造、製法によって異なり、多面体、柱体、両錐体、球体等が存在し、これらすべて使用可能であるが、好ましくは球体、特に好ましくは真球体がよい。

このような無機化合物粒子は、公知の製造方法、例えば特開昭52-138094号、特開昭61-149644号公報等に記載の方法により好適に得ることができる。

このような不溶性担体粒子には、染料を含ませることも可能である。

前記染料としては、特に制限されるものではなく、公知の染料を使用することができ、例えば、マラカイトグリーン、ローダミンB、メチレンブルー等のカチオン染料；ダイアニックス(三菱化成㈱の登録商標)、ディスバゾール(アイ・シー・アイ社の登録商標)、ミケトンポリエステ

ルに対する溶解度が1重量部以上、好ましくは5重量部以上、特に好ましくは10重量部以上であるものが好適である。

前記不溶性担体粒子における染料の量は、特に制限されるものではないが、通常0.5~8重量%、好ましくは1.0~5.0重量%である。

染料の量をこのような範囲に設定することにより、前記凝集反応の判定を容易に行うことができるとともに、特に不溶性担体粒子が無機化合物粒子である場合には、染料の溶出を防止することができる。

本発明に係る感作不溶性粒子は、前記ハンタウィルス抗原を前記不溶性担体粒子に感作して得ることができる。

ハンタウィルス抗原を不溶性担体粒子に感作するためには、不溶性担体粒子とハンタウィルス抗原とを水性媒体(例えば生理食塩水、PBSなど)中で接触させるのがよく、通常、不溶性担体粒子の水性媒体懸濁液とハンタウィルス抗原とを混合し、振盪して感作する。

ル(三井東圧化学㈱の登録商標)等の分散染料；コンゴレッド、ダイレクトディーブブラックEW、クリソフェニンG等の直接染料；アリザリンサフィロールB、アリザリンダイレクトブルーA、アリザリンシアニンググリーンG等の酸性染料；グイヤモンドブラックF、クロムファストネビーブルーB、バラチンファストブルーBN等の酸性媒染染料；アシドール(BASF社の登録商標)、アイゼンオバル(保土谷化学㈱の登録商標)、オレオソール(田岡化学の登録商標)等の含金属染料；ダイアミラ、ミカシロン(三菱化成㈱の登録商標)、スミフィックス(住友化学㈱の登録商標)等の反応染料；ミカホホワイト(三菱化成㈱の登録商標)、ホワイテックス(住友化学㈱の登録商標)等の蛍光増白染料などを挙げることができる。

これらの中でも好ましいのは、含金属染料、カチオン染料であり、さらに好ましくは、カチオン染料である。

また、これらの染料中でメタノール100重量

不溶性担体粒子を感作するに際してのハンタウィルス抗原の用量としては、不溶性担体粒子1gに対して、ハンタウィルス抗原を100~400HDP凝集単位、好ましくは150~250HDP凝集単位である。

なお、本発明においてHDP凝集単位とは、HDPの凝集に必要な最低濃度を1HDP凝集単位という。

この感作はpH6.0~8.0、4℃~20℃でおこなうのが望ましい。

感作後は水性媒体で洗浄して未感作のハンタウィルス抗原を除去し、さらに不溶性担体粒子に吸着される物質、例えばウシ血清アルブミンなどで粒子の残余面を飽和する。

本発明の診断用試薬は、前記感作不溶性粒子を、例えば、水性溶液に懸濁せしめて得ることができる。

上記感作不溶性粒子の含有量としては0.005~2重量%、好ましくは0.05~1重量%である。

なお、本発明に係る感作不溶性粒子は安定であるが、これを凍結乾燥することにより更に長期間保存することができる。凍結乾燥品は使用に際して純水を加えて溶解させるだけで新鮮製品と全く同様にして使用することができる。

本発明の診断用試薬はハンクウィルス抗体により凝集されるので、ヒトまたは動物の血清などの体液もしくはその希釈液と本発明の診断用試薬とをマイクロタイター用のプレート上で接触させ、感作不溶性粒子の管底凝集像を観察することによりハンクウィルス抗体の存在を判定することができる。

〔実施例〕

以下に実施例を示し本発明をさらに具体的に説明する。

なお、この実施例によって本発明は、何ら制限されるものではない。

(ハンクウィルス抗原の調製)

生後1日の哺乳ラット脳内に、ハンクウィルス感染哺乳ラット脳の1%乳剤0.01mℓを接種

量%)256mℓを25.5mℓ/hrの速度で滴々添加し、シリカ粒子(平均粒子径0.91μm)をつくった。このシリカ粒子を含む反応液中にさらにテトラエチルシリケートのメタノール溶液(44重量%)624mℓとメチレンブルーのメタノール溶液(1.25重量%)625mℓを同時に25.5mℓ/hrの速度で滴々添加し、該テトラエチルシリケートのメタノール溶液と該染料のメタノール溶液の滴々添加を同時に終了させ、染料で着色したシリカ粒子を合成した。得られたシリカ粒子をメタノールでデカンテーションによる精製と洗浄を繰り返した。

このように得られた2層構造からなるシリカ/染料複合体の平均粒子径は1.57μmであった。

次いで、得られたシリカ粒子を10重量%濃度になるようにメタノール中に分散し、その分散液100mℓにフェニルトリエトキシシランを0.5重量%濃度になるように添加し、10℃、16時間反応させて表面処理を行い、表面処理し

し、8日後に脳を摘出し、生理食塩水で20%乳剤を調製した。

この乳剤を4℃で6000rpm30分間遠心して上清をとり、これに10容量のエチルアルコールを加え、低温で攪拌し、減圧で乾燥した。

ついで、生理食塩水で再び原量にもどし、これに20%の硫酸プロタミンを加えて低温で攪拌し、これを10,000rpmで60分遠心したのち、その上清をとった。これにホルマリンを0.05容量%加え、4℃で14日間おいた後、生理食塩水に対して透析し、ハンクウィルス抗原を得た。

なお、力価は120HDP凝集単位/mℓであった。

(HDPの作製)

攪拌機付きガラス製フラスコ中にメタノール2800mℓ、アンモニア水(25重量%)616mℓおよび水酸化ナトリウム水溶液(5モル/ℓ)21mℓを加え10℃に保った後に、テトラエチルシリケートのメタノール溶液(22重

たシリカ粒子を得た。

(感作HDPの調製)

得られたハンクウィルス抗原を、M/60、pH7.2のPBSを用いて2HDP凝集単位の溶液とし、この抗原溶液5mℓと0.5%HDP/PBS5mℓとを混合し、室温でゆっくりスーターで攪拌しながら60分間感作した。感作後PBSで3回洗浄し、希釈液5mℓに懸濁して感作HDPとした。希釈液はPBSに非働化ウサギ血清を1%添加したものである。

(抗体価の測定)

V型マイクロプレートに希釈液を0.025mℓずつ分注し、第1番目のウェルに1:10供試血清0.025mℓを加えた。

これをダイリューターで倍数希釈を行ったのち、各ウェルに感作HDPを0.025mℓ滴下した。

よく混和後、室温で40分間静置した後、管底凝集像を判定し、凝集を示す血清の最大希釈倍数をHDP抗体価とした。

このような操作で供試血清20検体につきHDP抗体価を求めた。

結果を表に示す。

なお、表のHDP抗体価の欄において、(－)とは、供試血清のHDP抗体価が50以下の場合を表わす。

(比較例)

前記HDP法に用いた供試血清20検体について、蛍光抗体法(FA)により、検知しうる供試血清の最大希釈倍数をそのFA抗体価として求めた。

結果を表に示す。

なお、表のFA抗体価の欄において、(－)とは、供試血清のFA抗体価が16以下の場合を表わす。

表

血清No.	HDP抗体価	FA抗体価
1	—	—
2	—	—
3	—	—
4	—	—
5	—	—
6	—	—
7	—	—
8	—	—
9	—	—
10	—	—
11	400	128
12	100	64
13	3200	2048
14	800	128
15	400	128
16	1600	1024
17	400	64
18	6400	2048
19	1600	512
20	800	64

[発明の効果]

本発明によると、

(1) 不溶性担体粒子に対する抗体はありえないことから、検体とする血清等に前処理を行なう必要がなく、

(2) また、特殊な機器を用いずとも、簡単かつ迅速にハンタウィルスに感染しているか否かを診断することができる等の利点を有する腎症候性出血熱の診断用試薬を提供することができる。



US006261823B1

(12) **United States Patent**
Tang et al.(10) **Patent No.: US 6,261,823 B1**
(45) **Date of Patent: *Jul. 17, 2001**(54) **METHODS FOR PURIFYING VIRUSES**(75) **Inventors:** John Chu-Tay Tang, Livingston; Gary Vellekamp, Glen Ridge; Laureano L. Bondoc, Jr., Piscataway, all of NJ (US)(73) **Assignee:** Schering Corporation, Kenilworth, NJ (US)(*) **Notice:** This patent issued on a continued prosecution application filed under 37 CFR 1.53(d), and is subject to the twenty year patent term provisions of 35 U.S.C. 154(a)(2).

Subject to any disclaimer, the term of this patent is extended or adjusted under 35 U.S.C. 154(b) by 0 days.

(21) **Appl. No.:** 08/989,227(22) **Filed:** Dec. 11, 1997**Related U.S. Application Data**

(60) Provisional application No. 60/033,176, filed on Dec. 13, 1996.

(51) **Int. Cl.⁷** C12N 5/00(52) **U.S. Cl.** 435/239; 435/235.1; 210/660(58) **Field of Search** 435/235.1, 239; 210/660(56) **References Cited****U.S. PATENT DOCUMENTS**

4,569,794	2/1986	Smith et al. .	
5,447,859	• 9/1995	Prussak	435/239
5,480,800	• 1/1996	Legoux et al.	435/325
5,607,851	• 3/1997	Pellegrini et al.	435/236
5,705,378	• 1/1998	Yoshida et al.	435/194
5,837,520	11/1998	Shabram et al. .	

FOREIGN PATENT DOCUMENTS

0302692	2/1989	(EP) .
0 522 291 A1	1/1993	(EP) .
0 593 339 A1	4/1994	(EP) .
WO 95/11984	5/1995	(WO) .
WO 95/16772	6/1995	(WO) .
WO 96/22378	7/1996	(WO) .
WO 98/22588	5/1998	(WO) .

OTHER PUBLICATIONSHuyghe, et al. *Human Gene Therapy* 6: 1403-1416 (1995). Philipson, "Separation on DEAE cellulose of components associated with adenovirus reproduction," *Virology*, 19:459-465 (1960).Philipson, "Chromatographic and Membrane Separation," chapter 6, pp. 171-233 in *Methods in Virology*, Marmorosch and Koprowski eds., Academic Press, New York and London (1967).Albrechten et al., "Purification of plant virus coat proteins by high performance liquid chromatography," *J. Virological Methods*, 28:245-256 (1990).

Hewish et al., "Purification of Barley Yellow Dwarf virus by gel filtration on Sephracryl S-1000 superfine," 7:223-228 (1983).

Haruna et al., "Separation of a adenovirus by chromatography on DEAE-cellulose," *Virology*, 13:264-267 (1961).Kanegae, et al., "A simple and efficient method for purification of infectious recombinant adenovirus," *Jpn. J. Med. Sci., Biol.*, (Abstract only) 47 (3): 157-66 (1994).Crooks et al., "The use of size exclusion chromatography has not yet become widespread, but it currently being employed for large scale production of recombinant retrovirus," *J. Chrom.*, 502:59-68 (1990).

Mento, S.J. Viagene, Inc., as reported at the 1994 Williamsburg Bioprocessing Conference.

Klemperer and Pereir, *Virology*, "Study kof Adenovirus antigen fractionation by chromatography on DEAE cellulose," 9:536-545 (1959).Belew et al., *Anal. Biochem*, High performance analytical applications of immobilized metal ion affinity chromatography 164:457-465 (1987).Kato et al., *J. Chron*, "High-performance metal chelate affinity chromatography of proteins" 354:511-517 (1986).

Nikolaeva, et al., Abstract of S-kh Biol. (10) 75-78 (1985).

Hjorth and Moreno-Lopez J., "Purification of bovine papilloma virus by gel filtration on Sephracryl S-1000 Superfine," 5:151-158 (1982).

Gekko, K. et al., *Biochemistry*, 20 4677-4686 (1981).Gekko, K. et al., *J. Biochem.*, 107, pp. 572-577 (1990).

Chang L. T. et al., "Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology," (Demain, A.L. and N.A. Solomon, eds.) p. 466 (1986).

Fukumoto, et al., BIOSIS Abstract of Ann. Phytopathol Soc., Jpn. 49 (2) 229 (1983).

Nair, et al., *Indian Vet. J.*, 65 (3) 183-187 (1988).Kounounguisa, et al., *J. Phytopathol Soc. Jpn.* 49 (2) 220 (1983).House et al., *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* on, 2 (1) 44-50 (1990).Ferris, et al., *Journal of General Virology*, 48 (Pt. 2) 411-415 (1980).Abdelmoeti, et al., *Vaextskyddsrapporter, Avti.*, 3 (3) (19779).Gupta, et al., *Vaccine*, 14 (15) 1417-20 (1996).Franks, F., "Conformational Stability of Proteins," Chapter 11 in *kProtein Biotechnology*, (F. Franks, ed.) pp. 395-436 (Humana Press, 1993).

Ghera, R. L., "Manual of Methods for General Bacteriology," (Dermain, A.L. and N.A. Solomon, eds.) pp. 208-271 (1981).

Heckly, R. J., "Advances in Applied Microbiology," 24, pp. 1-53 (1978).

Hill, Abstract of Proc. Int. Wildl. Dis. Conf. 445-52 (1975) in *Wildlife Diseases*, Page (Ed.) Plenum Press, New York and London.Nylando, et al., *Appl. Microbiol.* 27 (1) 72-77 (1974).Philipson, "Adenovirus assay by the flourescent cell-counting procedure," *Virology*, 15:263-268 (1961).

* cited by examiner

Primary Examiner—Leon B. Lankford, Jr.(74) *Attorney, Agent, or Firm*—James M. Gould; David B. Schram(57) **ABSTRACT**

The invention provides methods for purifying a virus from impurities in an aqueous medium.

14 Claims, No Drawings